



TITLE:

Development of All-Organic Magnetic Mixed Micelles Aiming at Biomedical Application(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Nagura, Kota

CITATION:

Nagura, Kota. Development of All-Organic Magnetic Mixed Micelles Aiming at Biomedical Application. 京都大学, 2019, 博士(人間・環境学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21873>

RIGHT:

(続紙 1)

京都大学	博士（ 人間・環境学 ）	氏名	名倉 康太
論文題目	Development of All-Organic Magnetic Mixed Micelles Aiming at Biomedical Application (生物医療応用を目指した純有機磁性混合ミセルの開発)		
(論文内容の要旨)			
<p>最近、五員環ニトロキシドラジカルをスピンソースとする純有機ラジカル液晶化合物が、低磁場下での液晶状態で強い磁気相互作用（正の磁気液晶効果）を示すことが報告された。その原因として、液晶中で隣接ラジカル分子間に働くスピン分極により、スピニングラス様の不均一な磁気ドメイン構造が形成された可能性が高いと考えられている。そこで申請者は、長鎖アルキル側鎖を有する五員環ニトロキシドラジカル化合物を、同様の長鎖アルキル側鎖を有する界面活性剤カプセルに内包させることができれば、両者のアルキル側鎖間の疎水性相互作用とラジカル間の CH/π や CH/O 相互作用により、安定な磁性混合ミセルが生成すると予想した。特に申請者が注目したのは、磁気共鳴画像（MRI）法により追跡可能な薬剤送達システム（DDS）のキャリアとしての利用である。これまで、同様の目的でマグネタイトやガドリニウムなどの金属イオンをスピン源として用いた磁性ナノ粒子の開発が行われてきたが、純有機ナノ粒子の報告例はなかった。</p> <p>申請者は界面活性剤として長鎖アルキル基をもつポリエチレングリコール（PEG）系の非イオン性界面活性剤を用い、これと同程度の鎖長のアルキル側鎖をもつ種々のラジカル誘導体を合成し、ミセルの調製を試みた。その結果、安定な混合ミセルを得るとともに、疎水性蛍光色素や抗がん剤の内包にも成功し、さらに、それらの医療への応用も検討した。</p> <p>本論文は全4章で構成されており、以下に各章の概要を述べる。</p> <p>第一章は序論であり、常磁性液晶化合物が示す正の磁気液晶効果のメカニズムと磁性混合ミセルを設計するに至る経緯、さらには、現在、臨床で使用されている MRI 造影用ガドリニウム製剤の問題点と、純有機磁性ナノ粒子による MRI 造影剤を検討する意義について述べられている。</p> <p>第二章では、まず、界面活性剤として長鎖アルキル基と PEG から成る棒状構造を有する界面活性剤 Brij 58 と、同様の長鎖アルキル側鎖をもつ五員環ニトロキシドラジカルから調製された安定な混合ミセルの作製について述べられている。界面活性剤とニトロキシドラジカルに含まれるアルキル基の鎖長が等しい場合に、より安定なミセルが形成されることを明らかにした。さらに、本ミセルに含まれるニトロキシドラジカルの還元耐性は、ミセルを形成しないそれに比べ、飛躍的に向上することを明らかにした。ま</p>			

た、このミセルは、pyrene や porphyrin などの疎水性蛍光分子、paclitaxel や hydrocortisone などの薬剤を担持した場合においても、水溶液中に安定に分散することを明らかにした。MRI 造影能も *in vitro*、*in vivo* において確認されたものの、界面活性剤 Brij 58 とそれを含むミセルが細胞毒性を示す、という問題が明らかになった。その一方で、paclitaxel を内包した混合ミセルは、界面活性剤 Brij 58 が毒性を示さない濃度領域において、paclitaxel をそのまま用いた場合より、高い細胞殺傷能力（薬理活性）を示した。このことにより、この混合ミセルの DDS のキャリアとして可能性が示されたものの、混合ミセルそのものの毒性という、医療応用に向けて解決すべき問題点も明らかにした。

第三章では、第二章で確立した混合ミセル調製法に基づいて、さらに低毒性の混合ミセルの構築を目指し、先の界面活性剤 Brij 58 に代え Tween 80 を用いて、先と同様の五員環ニトロキシドラジカルとの混合ミセルの調製を試みた。その結果、先の Brij 58 を含むミセルと同等の安定性を示すミセルの構築に成功した。この Tween 80 を含むミセルは、Brij 58 含むそれに比べ、より高い還元耐性を示すとともに、期待通り、細胞毒性をほとんど示さなかった。また、*in vitro* で MRI 造影能を確認したのち、マウスを用いた *in vivo* 実験において、肝臓が白く造影されている画像が得られた。Tween 80 を含む混合ミセルが、血中でその磁性を維持したまま肝臓に到達し、造影能を示したと考えられる。これらに加え、混合ミセルは先述の疎水性蛍光分子や薬剤を担持しても、水溶液中に安定に分散することも明らかになった。さらに、申請者は、各種測定結果や数値計算に基づくミセルの構造についても言及し、混合ミセルの中心に水を含む構造を提案している。

第四章では、末端にグルコースと長鎖アルキル基を有する新規ラジカル化合物と Tween 80 からなる混合ミセルの調製に成功し、第三章で述べた混合ミセルと同等の還元耐性を示すことを明らかにした。また、このミセルは先述の疎水性蛍光分子や薬剤を担持しても、水溶液中に安定に分散することも明らかにした。さらに、この混合ミセルは、第三章で述べた混合ミセルと同様に細胞毒性がなく、マウスを用いた *in vivo* 毒性試験においても、コントロールと比べ、体重変化は認められなかった。*in vivo* での MRI 造影実験では、第三章で述べた混合ミセルと同様、肝臓の造影が認められた。

以上、磁性混合ミセル、および、蛍光剤、抗がん剤を内包した磁性混合ミセルの調製に成功し、それらの安定性、還元耐性、安全性、MRI 造影能を明らかにした。今後、本磁性混合ミセルが MRI 造影能を有する薬剤送達キャリアとして臨床応用されることが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

本論文では、これまで合成例がなかった各種純有機磁性混合ミセルを調製し、それらの安定性、還元耐性、ゲスト分子の担持能、安全性、MRI 造影能を明らかにした。審査の結果、以下の点で本論文は優れているとの結論に至った。

1. 本論文で述べられている純有機磁性混合ミセルは、五員環ニトロキシドラジカルをスピン源とする純有機ラジカル化合物を界面活性剤のみからなるミセルに加えることにより、世界で初めて得られたものである。したがって、それを調製したこと自体が高い新規性を有する。
2. この混合ミセルは、ミセル化されていない有機磁性体に比べ、より高い還元耐性を示した。実際には、水溶液中で20当量と大過剰の還元剤 (vitamin C) が存在する水溶液中で、ミセル化されていない有機磁性体である TEMPOL (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl) が半減期 2 分以内であったのに対し、本論文で報告された純有機磁性混合ミセルでは、半減期が 7 – 33 分と大きな向上が見られた。ラジカルの長寿命化に関しては、ニトロキシドラジカルの周辺を立体的に保護する方法はよく知られてきたが、ミセルを形成させることでニトロキシドラジカルの寿命を延ばすという方法はこれまでにない新規な方法であり、高く評価できる。
3. 上記純有機磁性混合ミセルは、蛍光体や薬剤などの有機分子を内包しても、安定なミセルとして分散状態を維持できることを明らかにした。このことは、この磁性ミセルが MRI のみならず、蛍光でもイメージングできる可能性や薬物キャリアとしても機能しうる可能性を示している。さらに、薬剤として抗がん剤である paclitaxel を内包した磁性混合ミセルでは、上述のニトロキシドラジカルの半減期が 64 分とさらに約 2 倍になることも明らかにした。
4. 界面活性剤に Brij 58 を用いた純有機磁性混合ミセルは、細胞毒性を示したものの、これを Tween 80 に代えたミセルは、全く毒性を示さなかった。また、マウスに投与した実験においても、体重の減少など、目立った変化は見られな

かった。この純有機磁性混合ミセルの安全性が確認されたことから、本磁性混合ミセルの実用化が一步近づいたとして評価できる。

5. 純有機磁性混合ミセルの MRI 造影能が、in vitro、in vivo で確認された。特に in vivo では、注入 60 分後でも肝臓がはっきりと造影されており、これは、ミセル自身の安定性とともラジカル還元耐性、ニトロキシドラジカルの造影能の 3 つの要素が揃って初めて可能となる。なお、これは、純有機ミセルによる MRI 造影剤の世界初の例となる。
6. 以上の結果と電子スピン共鳴 (ESR) スペクトルによる精細な分析とシミュレーション、さらにはモデルに基づく数値計算などを組み合わせ、ミセルの中心部に水を蓄えたミセルの構造を提案している。これは、これまでに例のない構造の提案であり、世界のミセル研究者の注目を集めることは間違いないと考えられる。

以上述べてきたように、本論文は、純有機磁性混合ミセルを様々な側面から検討しており、それぞれが高い新規性を有すると認められ、人間・環境学研究科 相関環境学専攻 分子・生命環境論講座の設立の趣旨にふさわしい内容を有している。

よって、本論文は博士（人間・環境学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 31 年 2 月 5 日に論文内容とそれに関連した事項について試問を行なった結果、合格と判定した。

要旨公表可能日： 年 月 日 以降